

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 2003-212776

(43)Date of publication of application : 30.07.2003

(51)Int.Cl.

A61K 31/704
 A61K 7/00
 A61K 7/02
 A61K 7/021
 A61K 7/075
 A61K 7/08
 A61K 7/13
 A61K 7/26
 A61K 7/48
 A61K 7/50
 A61K 9/107
 A61K 9/127
 A61K 47/24
 A61P 17/16

(21)Application number : 2002-374691

(71)Applicant : PACIFIC CORP

(22)Date of filing : 25.12.2002

(72)Inventor : YOO BYUNG HEE
 KANG BYUNG YOUNG
 YEON MYEONG HOON
 SUNG DAE SEOK
 JU HEE KYUNG
 KWON SUN SANG
 KIM HANKON

(30)Priority

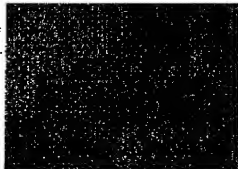
Priority number : 2002 200200613	Priority date : 05.01.2002	Priority country : KR
2002 200200614	05.01.2002	KR
2002 200219032	08.04.2002	KR
2002 200229179	27.05.2002	KR

(54) NANOEMULSION COMPRISING GINSENG SAPONIN METABOLITE AS ACTIVE INGREDIENT, METHOD FOR PRODUCING THE SAME AND COSMETIC COMPOSITION FOR PREVENTING SKIN AGING CONTAINING THE SAME

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To obtain a nanoemulsion which contains a metabolite of ginseng saponin and has enhanced skin permeability, to provide a method producing the nanoemulsion and to obtain a composition for preventing skin aging, which promotes proliferation of fibroblast and collagen biosynthesis by the nanoemulsion.

SOLUTION: This nanoemulsion is obtained by emulsifying compound K(20-O- β -D-glucopyranosyl-20(S)-protopanaxadiol, ginsenoside F1(20-O- β -D-glucopyranosyl-20(S)-protopanaxatriol) and compound Y(20-O-[α -L-arabinopyranosyl(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl]-20(S)-protopanaxadiol) being ginseng



metabolites produced by saccharide conversion reaction and their mixture in a minute emulsified particle and liposome by using a dermatropic emulsifying agent and a nanoemulsion technique. The nanoemulsion has maximized skin permeability and is effective for promoting proliferation of skin cells and collagen biosynthesis.

(51) Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テマコード ^(参考)
A 6 1 K 31/704 7/00	Z N M	A 6 1 K 31/704 7/00	Z N M 4 C 0 7 6 F 4 C 0 8 3 N 4 C 0 8 6 R S

審査請求 未請求 請求項の数16 O L (全 18 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2002-374691(P2002-374691)

(22) 出願日 平成14年12月25日 (2002.12.25)

- (31) 優先権主張番号 2 0 0 2 - 6 1 3
 (32) 優先日 平成14年1月5日 (2002.1.5)
 (33) 優先権主張国 韓国 (K R)
 (31) 優先権主張番号 2 0 0 2 - 6 1 4
 (32) 優先日 平成14年1月5日 (2002.1.5)
 (33) 優先権主張国 韓国 (K R)
 (31) 優先権主張番号 2 0 0 2 - 1 9 0 3 2
 (32) 優先日 平成14年4月8日 (2002.4.8)
 (33) 優先権主張国 韓国 (K R)

(71) 出願人 591135303

株式会社太平洋
大韓民国ソウル特別市竜山区漢江路2街
181番地

(72) 発明者 金 炳 熙

大韓民国 京畿道 水原市 八達區 豊通
洞 清明住公アパート 401棟201号

(72) 発明者 姜 炳 永

大韓民国 ソウル特別市 瑞草區 盤浦4
洞 美都アパート 308棟1503号

(74) 代理人 100082739

弁理士 成瀬 勝夫 (外2名)

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 人參サポニン代謝産物を有効成分とする微細乳化粒子及びその製造方法、並びにこれを含有する皮膚老化防止用の化粧料組成物

(57) 【要約】

【課題】 人參サポニンの代謝産物を含み、強化された皮膚透過性を有する微細乳化粒子を提供する。また、微細乳化粒子の製造方法を提供する。更に、微細乳化粒子を含有することにより繊維芽細胞増殖及びコラーゲン生成を促進することができる皮膚老化防止用の組成物を提供する。

【解決手段】 本発明は、糖転換反応によって製造された人參代謝産物である化合物 K (2 0 - 0 - β - D - グルコピラノシル - 2 0 (S) - プロトバナクサジオール)、ジンセノサイド F 1 (2 0 - 0 - β - D - グルコピラノシル - 2 0 (S) - プロトバナクサトリオール) 及び化合物 Y (2 0 - 0 - [α - L - アラビノピラノシル (1 \rightarrow 6) - β - D - グルコピラノシル] - 2 0 (S) - プロトバナクサジオール)、並びにこれらの混合物を皮膚親和性乳化剤とナノ乳化技術を用いて、微細な乳化粒子及びリポソーム内に乳化させることによって得られる微細乳化粒子に関するもので、本発明の微細乳化粒子は、皮膚透過性が極大化され、皮膚細胞増殖及びコラーゲン生成を促進するのに効果的である。



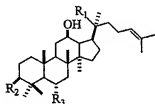
【特許請求の範囲】

【請求項1】 有効成分として人参サポニンの代謝産物を含有する微細乳化粒子であって、前記人参サポニン代謝産物故人参サポニンから糖転換反応により得られたものであることを特徴とする微細乳化粒子。

【請求項2】 前記人参サポニン代謝産物は、下記化学式1で表される2-O-β-D-グルコピラノシル-2-O(S)-プロトバナクサジオール(protopanaxadiol)、化学式2で表される2-O-β-D-グルコピラノシル-2-O(S)-プロトバナクサトリオール(protopanaxatriol)、及び化学式3で表される2-O-β-D-グルコピラノシル(1→6)-β-D-グルコピラノシル]-2-O(S)-プロトバナクサジオール、並びにこれらの混合物からなる群のうち選択されることを特徴とする請求項1に記載の微細乳化粒子。

【化1】

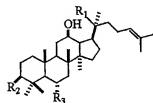
【化学式1】



(式中、R₁はO-Glcであり、R₂はOHであり、R₃はHである。)

【化2】

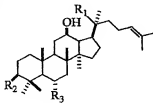
【化学式2】



(式中、R₁はO-Glcであり、R₂はOHであり、R₃はOHである。)

【化3】

【化学式3】



(式中、R₁はO-Glcであり、R₂はOHであり、R₃はHである。)

【請求項3】 前記混合物は、2-O-β-D-グルコピ

ラノシル-2-O(S)-プロトバナクサジオール30～50重量%、2-O-β-D-グルコピラノシル-2-O(S)-プロトバナクサトリオール5～25重量%、及び2-O-β-D-アラビノピラノシル(1→6)-β-D-グルコピラノシル]-2-O(S)-プロトバナクサジオール5～25重量%を含むことを特徴とする請求項2に記載の微細乳化粒子。

【請求項4】 人参サポニン代謝産物を微細乳化粒子の総重量に対して、10⁻⁸～50重量%の量で含有することを特徴とする請求項1に記載の微細乳化粒子。

【請求項5】 人参サポニン代謝産物を微細乳化粒子の総重量に対して、0.001～30重量%の量で含有することを特徴とする請求項4に記載の微細乳化粒子。

【請求項6】 平均粒径が30～500nmであることを特徴とする請求項1に記載の微細乳化粒子。

【請求項7】 レシチンまたはその誘導体で乳化させたことを特徴とする請求項1に記載の微細乳化粒子。

【請求項8】 前記レシチンは、不飽和コリン系化合物、セリン系化合物、セファリン系化合物、及びこれらの水素添加物からなる群のうち選択された1種以上を含有するリポソームであり、微細乳化粒子の総重量に対して、0.5～10重量%の量で使用されることを特徴とする請求項7に記載の微細乳化粒子。

【請求項9】 前記不飽和コリン系化合物は、ホスファチジルコリンまたはリノホスファチジルコリンであり、前記セファリン系化合物は、ホスファチジルエタノールアミンであることを特徴とする請求項8に記載の微細乳化粒子。

【請求項10】 陰イオン系、陽イオン系、非イオン系または両性イオン系乳化剤からなる群のうち選択された補助乳化剤が、レシチンと一緒に使用され、レシチンの重量に対して0.1～5倍の比率に使用されることを特徴とする請求項7ないし9のいずれかに記載の微細乳化粒子。

【請求項11】 500～2,500barでの高圧乳化のナノ乳化技術で乳化させたことを特徴とする請求項1または7に記載の微細乳化粒子。

【請求項12】 請求項1に記載の微細乳化粒子の製造方法であって、レシチンまたはその誘導体により人参サポニンの代謝産物を乳化させる段階を含むことを特徴とする微細乳化粒子の製造方法。

【請求項13】 ナノ乳化技術により人参サポニンの代謝産物を乳化させる段階を含むことを特徴とする請求項12に記載の微細乳化粒子の製造方法。

【請求項14】 前記ナノ乳化技術は、500～2,500barでの高圧乳化法であることを特徴とする請求項13に記載の微細乳化粒子の製造方法。

【請求項15】 請求項1ないし11のいずれかに記載の微細乳化粒子を組成物の総重量に対して、10⁻⁸～50重量%含有することを特徴とする皮膚老化防止用の組成物。

5

ン自体によるものだというよりは、サポニンが腸内細菌により分解されたサポニンの腸内細菌代謝産物によるものであると明らかになった。これにより、人参のサポニン成分のうち、アグリコンに糖(グルコース)が一つ付いた構造からなるジンセノサイドR h 1、R h 2及びF 1と、化合物K等とが、ガン細胞及び肺癌の増殖抑制作用、抗ガン剤の活性増大作用などの薬理作用を有していることが報告されている。

【0010】このような研究にもかかわらず、人参サポニンから糖の一部を除去することによって得られた化合物K、ジンセノサイドF 1及び化合物Yに対して、未だに皮膚に導入させる技術や剤型化技術に関しては研究されることがなかった。

【0011】

【非特許文献1】 Curri, SB, Gezz, Z, Longhi, MG, Castelpetra, R: Fitoterapia, 57, 217(1986)

【非特許文献2】 Gezzi, A, Longhi, MG, Mazzoleni, R, Curri, SB: Fitoterapia, 57, 15(1986)

【非特許文献3】 Bombardelli, E, Curri, SB, Gariboldi, PL: Proc. 5th Intl. Ginseng Sym. Seoul Korea, 11(1988)

【0012】

【特許文献1】 米国特許第5,565,207号明細書

【特許文献2】 米国特許第5,567,419号明細書

【特許文献3】 米国特許第5,578,312号明細書

【特許文献4】 米国特許第5,663,160号明細書

【特許文献5】 米国特許第5,626,868号明細書

【特許文献6】 米国特許第5,753,242号明細書

【特許文献7】 米国特許第5,747,300号明細書

【特許文献8】 米国特許第5,853,705号明細書

【特許文献9】 米国特許第6,027,728号明細書

【特許文献10】 米国特許第6,063,366号明細書

【特許文献11】 米国特許第6,221,372号明細書

【特許文献12】 米国特許第6,228,378号明細書

【0013】

【特許文献13】 米国特許第5,569,459号明細書

【特許文献14】 米国特許第5,571,516号明細書

【特許文献15】 米国特許第5,587,167号明細書

【特許文献16】 米国特許第5,674,488号明細書

【特許文献17】 米国特許第5,665,393号明細書

【特許文献18】 米国特許第5,629,316号明細書

6

【特許文献19】 米国特許第5,776,460号明細書

【特許文献20】 米国特許第5,739,165号明細書

【特許文献21】 米国特許第5,916,555号明細書

【特許文献22】 米国特許第6,071,521号明細書

【特許文献23】 米国特許第6,083,512号明細書

【特許文献24】 米国特許第6,255,313号明細書

【0014】

【特許文献25】 米国特許第5,591,611号明細書

【特許文献26】 米国特許第5,591,612号明細書

【特許文献27】 米国特許第5,736,380号明細書

【特許文献28】 米国特許第5,789,392号明細書

【特許文献29】 米国特許第5,780,620号明細書

【特許文献30】 米国特許第5,922,580号明細書

【特許文献31】 米国特許第5,935,636号明細書

【特許文献32】 米国特許第6,132,726号明細書

【特許文献33】 米国特許第6,156,817号明細書

【特許文献34】 米国特許第6,207,164号明細書

【0015】

【発明が解決しようとする課題】 本発明者は、化合物K、ジンセノサイドF 1及び化合物Yを皮膚に適用できる方法を見いだすために、微細乳化法(microemulsification)に対して研究して来た。その結果、皮膚親和性乳化剤及びナノ乳化技術(nano-emulsification)を用いて、人参サポニンの代謝産物を乳化粒子またはリポソーム内に乳化させることにより得られた微細乳化粒子(nanoemulsion)が強化された皮膚透過性を有し、これにより、皮膚老化防止用の組成物に適用できることを確認した。本発明の微細乳化粒子を含有する化粧料組成物は、繊維芽細胞の増殖及びコラーゲンの生合成を促進することができ、従って、皮膚老化を効果的に防止することができる。

【0016】 従って、本発明の目的は、人参サポニンの代謝産物を含み、強化された皮膚透過性を有する微細乳化粒子(nanoemulsion)を提供することにある。また、

7

本発明の他の目的は、微細乳化粒子の製造方法を提供することにある。本発明の他の目的は、微細乳化粒子を含有することにより繊維芽細胞増殖及びコラーゲン生成を促進することができる皮膚老化防止用の組成物を提供することにある。

【0017】本発明の微細乳化粒子は、糖転換反応により生成される人参サポニンの主要代謝産物、つまり化合物K、ジンセノサイドF1及び化合物Y、並びにこれらの混合物を含む。本発明の微細乳化粒子は、皮膚親和性乳化剤及びナノ乳化技術を用いて、人参サポニンの代謝産物を微細な乳化粒子またはリポソームに乳化させることにより製造できる。本発明の微細乳化粒子は、強化された皮膚透過性を有し、これにより、これを含有する化粧料組成物は、繊維芽細胞増殖及びコラーゲン生成を促進することができ、従って、皮膚老化を効果的に防止することができる。

【0018】

【課題を解決するための手段】以下、本発明をより詳しく説明する。本発明は、糖転換反応によって製造された人参サポニンの主要代謝産物である化合物K(2-O- β -D-グルコピラノシル-20(S)-プロトパナクサジオール)、ジンセノサイドF1(2-O- β -D-グルコピラノシル-20(S)-プロトパナクサトリオール)、及び化合物Y(2-O- α -L-アラビノピラノシル(1 \rightarrow 6)- β -D-グルコピラノシル)-20(S)-プロトパナクサジオール)、並びにこれらの混合物を含有する微細乳化粒子に関するものである。上記代謝産物の混合物を以下では、「バイオG F1K」という。本発明では、好ましくは、バイオG F1Kが使用されるが、これは、それぞれの代謝産物への精製過程が要らないためである。より好ましくは、バイオG F1Kは、人参精製サポニンから糖転換反応(酸、アルカリ加水分解反応あるいは酵素反応)により得られる代謝産物の混合物として、化合物Kを30~50重量%、ジンセノサイドF1を5~25重量%、及び化合物Yを5~25重量%含む。

【0019】本発明の微細乳化粒子は、ナノ乳化技術を用いて、人参サポニンの代謝産物を微細な乳化粒子またはリポソーム内に乳化させることにより製造することができる。好ましくは、本発明の微細乳化粒子は、ナノメートル単位の粒子サイズを有するナノ乳化粒子である。特に、本発明の微細乳化粒子は、人参サポニンの代謝産物を高圧乳化法及び溶媒抽出法などのナノ乳化技術を用いて、レシチンまたはその誘導体のような皮膚親和性乳化剤により微細な乳化粒子またはリポソーム内に乳化させることにより製造することができる。得られる微細乳化粒子は、強化された皮膚透過性を有し、これにより、これを含有する化粧料組成物は、繊維芽細胞増殖及びコラーゲン生成を促進することができ、皮膚老化を効果的に防止することができる。

【0020】上記化合物Kは下記化学式1で、ジンセノ

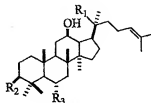
8

サイドF1は下記化学式2で、化合物Yは化学式3で表される。

【0021】

【化4】

【化学式1】

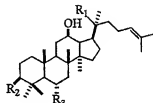


(式中、R1はO-Glcであり、R2はOHであり、R3はHである。)

【0022】

【化5】

【化学式2】

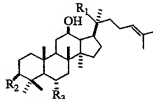


(式中、R1はO-Glcであり、R2はOHであり、R3はHである。)

【0023】

【化6】

【化学式3】



(式中、R1はO-Glc⁶⁻¹Arapであり、R2はOHであり、R3はHである。)

【0024】また、上記バイオG F1Kは、化学式1で表される化合物Kを30~50重量%、化学式2で表されるジンセノサイドF1を5~25重量%、化学式3で表される化合物Yを5~25重量%含む。

【0025】一般に、疎水性物質が親水性物質より皮膚透過に効果的である。これは、皮膚の角質層中に分布されているセラミドのような細胞間地質のためである。疎水性物質は、細胞間地質との相互作用を有し、これにより皮膚の最外層をより容易に通過できる。上記化学式1~3に示されているように、化合物K、ジンセノサイドF1、及び化合物Yは、人参サポニンから糖の一部を除

去することにより分子量を減らし、疎水性であり、このため、皮膚透過性が増加される。

【0026】本発明において、バイオGFIKは、酸またはアルカリ加水分解、または酵素反応により人参サポニンから糖を除去した後、シリカゲルコラムを通過させて製造することができる。また、バイオGFIKは、シリカゲルコラム上で溶離液の極性を変化させて分画した後、TLC上でそれぞれの人参サポニン代謝産物に分離することができる。

【0027】本発明で使用される酵素は、サポニン糖結合を分解するβ-グルコース分解酵素(β-glucosidase)；エキソ糖結合を分解するα、β-アラビノース分解酵素(α、β-arabinosidase)及びα、β-ラムノース分解酵素(α、β-rhamnosidase)；これらの酵素複合体などである。

【0028】本発明の微細乳化粒子は、人参サポニン代謝産物を微細乳化粒子の総重量に対して、10⁻¹⁰～50重量%の量で含有することができる。より好ましくは、代謝産物を0.001～30重量%の量で含有することができる。

【0029】本発明の微細乳化粒子は、製法によって差異があるが、組成物の総重量に対して10⁻¹⁰～50重量%の量で配合される。10⁻¹⁰重量%未満では、効能を期待できず、50重量%を超える場合は、剤型安定度が劣るおそれがある。

【0030】本発明の微細乳化粒子は、その粒径が30～500nm程度で、好ましくは50～300nm程度が適当である。これにより、本発明の微細乳化粒子は500nm以上の粒径を有する通常の乳化粒子に比べて、皮膚との接触面を相対的に増加させることができ、経皮吸収面積も増加させることができる。また、皮膚角質層の細胞間地質間の隙間が約50nm内外という点と、乳化粒子の乳化膜が柔軟性を有するという点を勘案すると、本発明の微細乳化粒子は、細胞間地質内に容易に吸収されて拡散される。すなわち、ナノ乳化技術によって粒径が30～500nmの本発明の微細乳化粒子は、皮膚との接触面の増加と、細胞間地質への浸透及び拡散という2つの経路を通じて、微細乳化粒子自体及び有効成分としてその内部に含有されている化合物K、ジンセンノサイドF1及び化合物Yの皮膚透過性を増加させることができる。

【0031】また、本発明において、乳化剤として使用されるレシチンは、ホスファチジルコリン(phosphatidylcholine)、リソホスファチジルコリン(lysophosphatidylcholine)のような不飽和コリン系化合物と；セリン系化合物と；ホスファチジルエタノールアミン(phosphatidylethanolamine)のようなセファリン系化合物と；これらの水素添加物と；からなる群のうち選択された1種以上を含有するリポソームとして、微細乳化粒子の総重量に対して0.5～10重量%、好ましくは2～5重量%の

量で使用する。

【0032】また、陰イオン系、陽イオン系、非イオン系または両性イオン系乳化剤などの補助乳化剤をレシチンと一緒に使用することができ、レシチンの重量対比0.5～5倍、好ましくは1～3倍の割合で使用することができる。また、ナノ乳化技術としては、500～2,500bar圧力下での高圧乳化法または溶媒抽出法を利用することができる。

【0033】得られた微細乳化粒子は、皮膚老化防止用の組成物に配合される。本発明の組成物は、その剤型において、特に限定されるものではないが、柔軟化剤水、収斂化剤水、栄養化剤水、栄養クリーム、マッサージクリーム、エッセンス、アイクリーム、アイエッセンス、クレンジングクリーム、クレンジングフォーム、クレンジングウォーター、パック、パウダー、ボディローション、ボディクリーム、ボディオイル、ボディエッセンス、メーキャップベース、ファンデーション、染毛剤、シャンプー、リンス、ボディ洗浄剤、歯磨き粉または口腔清浄液などの化粧品、及びローション、軟膏、ゲル、クリーム、パッチまたは噴霧剤等の医薬料に剤型化される。

【0034】以下、実施例及び試験例を挙げて本発明の構成及び効果をより具体的に説明する。

【0035】【参考例1】人参精製サポニンの製造

紅参2kgに水と、エタノール4リットルを入れ、3回還流してそれぞれ抽出した後、15℃で6日間沈積させた。その後、濾過及び遠心分離により残渣と濾液を分離し、分離された濾液を減圧濃縮した。濃縮液を水に懸濁した後、エーテル1リットルで3回抽出して色素を除去した。水層を1-ブタノール500mlで3回抽出して得られた1-ブタノール層全体を5%KOHで処理した後、蒸留水で洗浄した。次いで、減圧濃縮して1-ブタノール抽出液を得、これを少量のメタノールに溶かした後、大量のエチルアセテートに追加した。得られた沈殿物を乾燥して、人参精製サポニン100g(収率：5%)を得た。

【0036】【参考例2】酸加水分解方法によるバイオGFIKの製造

参考例1で得られた人参精製サポニン10gに20倍(v/w)の7%硫酸/50%エタノール溶液(v/w)を加え、100℃の水槽で6時間加熱還流させて、人参サポニンに結合された糖結合を加水分解させた。反応液を減圧濃縮して溶媒を除去し、残渣に蒸留水1,000mlを加えて懸濁させた後、同量のエーテルで3回抽出した。エーテル層全体を蒸留水で洗浄した後、無水硫酸マグネシウム(MgSO₄)で脱水、濾過、濃縮して粗生成物を得た。得られた粗生成物をシリカゲルコラムクロマトグラフィー(溶離液で、クロロホルム：メタノール＝9：1→4：1)で分離し、バイオGFIK 210mg(収率2%)を得た。各分画に対して、薄層クロマトグラフィー(ク

11

クロホルム/メタノール/水=6/5/3/5/10)し、化合物K(Rf=0.73)70mg、ジンセノサイドF1(Rf=0.65)30mg、及び化合物Y(Rf=0.49)35mgを得た。

【0037】〔参考例3〕塩基加水分解方法によるバイオG F 1 Kの製造

参考例1で得られた人参精製サポニン10gを乾燥ビリジ(500ml)に溶かした後、ここに、ナトリウム・メトキシド(粉末、10g)を加え、油浴で8時間還流反応させて、人参サポニンに結合された糖結合を加水分解させた。反応液を減圧濃縮して溶媒を除去し、残渣に蒸留水1.000mlを加えて懸濁させた後、同量のエーテルで3回抽出した。エーテル層全体を蒸留水で洗浄した後、無水硫酸マグネシウム(MgSO₄)で脱水、濾過、濃縮して粗生成物を得た。得られた粗生成物をシリカゲルクロマトグラフィー(溶離液として、クロロホルム/メタノール/水=9:1→4:1)で分離し、バイオG F 1 K 2.05mg(収率2%)を得た。各分画に対して、薄膜クロマトグラフィー(クロロホルム/メタノール/水=6/5/3/5/10)し、化合物K(Rf=0.73)75mg、ジンセノサイドF1(Rf=0.65)35mg、及び化合物Y(Rf=0.49)30mgを得た。

【0038】〔参考例4-1〕酵素分解方法によるバイオG F 1 Kの製造

参考例1で得られた人参精製サポニン10gをシートレート緩衝液(pH5.5)100mlに溶解させた。ここに、ベニシリウムの中から分離したナリンギナーゼ(naringinase)酵素1gを添加し、40℃の水浴で48時間攪拌させながら反応させた。反応は、薄膜クロマトグラフィーにより周期的にチェックした。基質が完全に消失されると熱水で10分間加熱して反応を終了させた。反応液は、同量のエーテルで3回抽出、濃縮した。得られた生成物をシリカゲルクロマトグラフィー(溶離液として、クロロホルム/メタノール/水=9:1→4:1)で分離し、バイオG F 1 K 1.050mg(収率10.5%)を得た。各分画に対して、薄膜クロマトグラフィー(クロロホルム/メタノール/水=6/5/3/5/10)し、化合物K(Rf=0.73)440mg、ジンセノサイドF1(Rf=0.65)150mg、及び化合物Y(Rf=0.49)140mgを得た。

【0039】本発明のバイオG F 1 Kの製造に、次のような酵素反応を利用することができる。

〔参考例4-2〕人参精製サポニン10gを、15%エタノールを含有したシートレート緩衝液(pH4.0)100mlに溶解させた。ここに、ベニシリウムの中から分離したナリンギナーゼ酵素0.5gを添加し、40℃の水浴で48時間攪拌させながら反応させた。反応は、薄膜クロマトグラフィーにより周期的にチェックした。基質が完全に消失されると熱水で10分間加熱して反応を終了させた。反応液は、同量のエチルアセテートで3回

12

抽出、濃縮した。得られた生成物をシリカゲルクロマトグラフィー(溶離液として、クロロホルム/メタノール/水=9:1→4:1)で分離し、バイオG F 1 K 373mg(収率3.73%)を得た。各分画に対して、薄膜クロマトグラフィー(クロロホルム/メタノール/水=6/5/3/5/10)し、化合物K(Rf=0.73)150mg、ジンセノサイドF1(Rf=0.65)100mg、及び化合物Y(Rf=0.49)102mgを得た。

【0040】〔参考例4-3〕人参精製サポニン10gを、15%エタノールを含有したシートレート緩衝液(pH4.0)100mlに溶解させた。ここに、アスペルギルスの中から分離したペクチナーゼ(pectinase)酵素2gを添加し、30℃の水浴で48時間攪拌させながら反応させた。反応は、薄膜クロマトグラフィーにより周期的にチェックした。基質が完全に消失されると熱水で10分間加熱して反応を終了させた。反応液は、同量のエチルアセテートで3回抽出、濃縮した。得られた生成物をシリカゲルクロマトグラフィー(溶離液として、クロロホルム/メタノール/水=9:1→4:1)で分離し、バイオG F 1 K 190mg(収率1.9%)を得た。各分画に対して、薄膜クロマトグラフィー(クロロホルム/メタノール/水=6/5/3/5/10)し、化合物K(Rf=0.73)80mg、ジンセノサイドF1(Rf=0.65)30mg、及び化合物Y(Rf=0.49)35mgを得た。

【0041】〔参考例4-4〕人参精製サポニン10gをシートレート緩衝液(pH5.5)100mlに溶解させた。ここに、アスペルギルスの中から分離したペクチナーゼ酵素2gを添加し、30℃の水浴で48時間攪拌させながら反応させた。反応は、薄膜クロマトグラフィーにより周期的にチェックした。基質が完全に消失されると熱水で10分間加熱して反応を終了させた。反応液は、同量のエーテルで3回抽出、濃縮した。得られた生成物をシリカゲルクロマトグラフィー(クロロホルム/メタノール/水=9:1→4:1)で分離し、バイオG F 1 K 493mg(収率4.93%)を得た。各分画に対して、薄膜クロマトグラフィー(クロロホルム/メタノール/水=6/5/3/5/10)し、化合物K(Rf=0.73)180mg、ジンセノサイドF1(Rf=0.65)82mg、及び化合物Y(Rf=0.49)85mgを得た。下記の実施例1~6では、参考例から得られた化合物K、ジンセノサイドF1及び化合物Yを含有することにより、本発明の微細乳粒子を製造した。各成分及び含量は、表1に示した。

【0042】〔実施例1〕レシチン、水添レシチン、コレステロール、豆油及びプロピレングリコールが溶解された溶液に化合物K、ジンセノサイドF1及び化合物Yを含むバイオG F 1 Kを入れ、70~75℃まで加熱して完全に溶解させた。その後、あらかじめ加熱した水相パート(蒸留水、EDTA)と混合し、一般のホモミキサ

13

により3,000~6,000rpmで3分間前乳化(pre-emulsion)させた。次いで、高圧乳化器(Microfluidizer)を使用して1,000bar/3cyclesで乳化させた。上記成分のうち、水添レシチンの場合、乳化安定度は優秀であるが、不飽和レシチンに比べて皮膚親和度が劣るので、皮膚透過性がよくない。従って、本実施例では、2種類のレシチンを混合して使用した。

【0043】〔実施例2〕実施例1で説明した方法により、バイオGFIKの代わりに化合物Kを乳化させた。

【0044】〔実施例3〕実施例1で説明した方法により、バイオGFIKの代わりにジンセンノサイドF1を乳

化させた。

【0045】〔実施例4〕実施例1で説明した方法により、バイオGFIKの代わりに化合物Yを乳化させた。

【0046】〔実施例5〕レシチン、PEG-5ブドウの種ステロール、トリカプリン酸グリセリル/トリカプリルグリセリル、BHT、 α -トコフェロール、及びベンチレンジリコールをエタノールに溶解させた溶液に、バイオGFIKを入れ、70~75℃まで加熱して完全に溶解させた。その後、あらかじめ加熱した水相パート(蒸留水、EDTA)と混合し、一般のホモミキサにより3,000~6,000rpmで3分間前乳化させた。次いで、高圧乳化器を使用して1,000bar/3cyclesで乳化させた。上記成分のうち、不飽和レシチンの化学的不安定性を補完するために、抗酸化剤としてBHTを添加し、乳化安定度を増加するために、補助乳化剤としてPEG-5ブドウの種ステロールを添加した。

【0047】〔実施例6〕水添レシチン、水添リゾホスファチジルコリン(HLPC)及びプロピレンジリコールをエタノールに溶解させた溶液に、バイオGFIKを入れ、70~75℃まで加熱して完全に溶解させた。その後、あらかじめ加熱した水相パート(蒸留水、EDTA、グリセリン、ベタイン)と混合し、一般のホモミキサにより3,000~6,000rpmで3分間前乳化させた。次いで、高圧乳化器を使用して1,000bar/3cyclesで乳化させた。上記成分のうち、水添リゾホス

14

ファチジルコリン(HLPC)は、水添レシチンを構成している水添ホスファチジルコリン(HPC)を加水分解させて得られたもので、HPCより乳化力が優れている。

【0048】皮膚透過性において、実施例1~6で得られた微細乳化粒子と人参精製サポニンとを比較するために、実施例で説明した方法により、人参サポニン代謝産物の代わりに人参精製サポニンを乳化させ、比較例1~3を製造した。各成分及び含量は、表1に示した。

【0049】〔比較例1〕実施例1で説明した方法により、バイオGFIKの代わりに参考例1で製造した人参精製サポニンを乳化させた。

【0050】〔比較例2〕実施例5で説明した方法により、バイオGFIKの代わりに参考例1で製造した人参精製サポニンを乳化させた。

【0051】〔比較例3〕実施例6で説明した方法により、バイオGFIKの代わりに参考例1で製造した人参精製サポニンを乳化させた。

【0052】〔実施例7〕実施例5で説明した方法により、バイオGFIKの代わりに化合物Kを乳化させた。

【0053】〔実施例8〕実施例5で説明した方法により、バイオGFIKの代わりにジンセンノサイドF1を乳

化させた。

【0054】〔実施例9〕実施例5で説明した方法により、バイオGFIKの代わりに化合物Yを乳化させた。

【0055】〔実施例10〕実施例6で説明した方法により、バイオGFIKの代わりに化合物Kを乳化させた。

【0056】〔実施例11〕実施例6で説明した方法により、バイオGFIKの代わりにジンセンノサイドF1を乳

化させた。

【0057】〔実施例12〕実施例6で説明した方法により、バイオGFIKの代わりに化合物Yを乳化させた。

【0058】

【表1】

(単位:重量%)

成分	実施例						比較例		
	1	2	3	4	5	6	1	2	3
水添レシチン	1.5	1.5	1.5	1.5	-	2.5	1.5	-	2.5
レシチン	3.0	3.0	3.0	3.0	2.0	-	3.0	2.0	-
PEG-5ブドウの糖ステロール	-	-	-	-	4.0	-	-	4.0	-
トリカブリン糖グリセリル/ トリカブリングリセリル	-	-	-	-	7.5	-	-	7.5	-
水添リボス脂肪酸ジユリオン	-	-	-	-	-	0.15	-	-	0.15
コレステロール	1.5	1.5	1.5	1.5	-	-	1.5	-	-
豆油	7.5	7.5	7.5	7.5	-	-	7.5	-	-
ベンチレンジリコール	-	-	-	-	5.0	-	-	5.0	-
プロピレンジリコール	5.0	5.0	5.0	5.0	-	4.0	5.0	-	4.0
エタノール	-	-	-	-	7.5	6.5	-	7.5	6.5
バイオGF1K	1.5	-	-	-	1.5	1.5	-	-	-
化合物X	-	1.5	-	-	-	-	-	-	-
ジンセノサイドF1	-	-	1.5	-	-	-	-	-	-
化合物Y	-	-	-	1.5	-	-	-	-	-
人参精製サポニン	-	-	-	-	-	1.5	1.5	1.5	-
α-トコフェロール	-	-	-	-	0.2	-	-	0.2	-
アサゲイトキリコ(抽出)	-	-	-	-	0.01	-	-	0.01	-
蒸留水	to	to	to	to	to	to	to	to	to
EDTA	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
グリセリン	-	-	-	-	4.0	-	-	4.0	-
ベタイン	-	-	-	-	1.0	-	-	1.0	-

【0059】一方、皮膚親和性乳化剤の使用及びナノ乳化技術による微細乳化粒子の皮膚透過性増進効果を認めるために、比較例4として、参考例4-1で製造したバイオGF1K1、5重量%を溶解させたエタノール溶液を；比較例5として、バイオGF1K1、5重量%を溶解させたプロピレンジリコール/エタノール溶液を；比較例6として、バイオGF1K1、5重量%を溶解させたベンチレンジリコール/エタノール溶液を製造し 30 た。そして、比較例2として、人参精製サポニン1、5*

*重量%を溶解させたエタノール溶液を；比較例8として、人参精製サポニン1、5重量%を溶解させたプロピレンジリコール/エタノール溶液を；比較例9として、人参精製サポニン1、5重量%を溶解させたベンチレンジリコール/エタノール溶液を製造した。比較例4～9は、表2に示した。

【0060】

【表2】

成分	含量	希釈溶媒
比較例4 バイオGF1K	1.5重量%	エタノール
比較例5 バイオGF1K	1.5重量%	プロピレンジリコール/エタノール(4.0/6.5)
比較例6 バイオGF1K	1.5重量%	ベンチレンジリコール/エタノール(5.0/7.5)
比較例7 人参精製サポニン	1.5重量%	エタノール
比較例8 人参精製サポニン	1.5重量%	プロピレンジリコール/エタノール(4.0/6.5)
比較例9 人参精製サポニン	1.5重量%	ベンチレンジリコール/エタノール(5.0/7.5)

【0061】そして、本発明の微細乳化粒子は、次の組 40 成物により処方した。表3～表7の単位は重量%である。

【0062】

【表3】

<処方例：クリーム剤型>

組成	剤型例						比較剤型例		
	1	2	3	4	5	6	1	2	3
実施例1の微細乳化粒子	10.0	-	-	-	-	-	-	-	-
実施例2の微細乳化粒子	-	10.0	-	-	-	-	-	-	-
実施例3の微細乳化粒子	-	-	10.0	-	-	-	-	-	-
実施例4の微細乳化粒子	-	-	-	10.0	-	-	-	-	-
実施例5の微細乳化粒子	-	-	-	-	10.0	-	-	-	-
実施例6の微細乳化粒子	-	-	-	-	-	10.0	-	-	-
比較例1の微細乳化粒子	-	-	-	-	-	-	10.0	-	-
比較例2の微細乳化粒子	-	-	-	-	-	-	-	10.0	-
比較例3の微細乳化粒子	-	-	-	-	-	-	-	-	10.0
蜜蝋	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0
ポリソルベート60	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
セスキオレイン酸ソルビタン	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
PEG-60硬化ヒマシ油	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
流動パラフィン	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0
スクアラン	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
トリカプリン酸グリセリル/ トリカプリルグリセリル	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
グリセリン	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
ブチレングリコール	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0
プロピレングリコール	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0
トリエタノールアミン	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
防腐剤	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.
色素	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.
香料	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.
蒸留水	to 100	to 100	to 100	to 100	to 100	to 100	to 100	to 100	to 100

【0063】

【表4】

<処方例：栄養化粧水>

組成	剤型例						比較剤型例		
	7	8	9	10	11	12	4	5	6
実施例1の微細乳化粒子	10.0	-	-	-	-	-	-	-	-
実施例2の微細乳化粒子	-	10.0	-	-	-	-	-	-	-
実施例3の微細乳化粒子	-	-	10.0	-	-	-	-	-	-
実施例4の微細乳化粒子	-	-	-	10.0	-	-	-	-	-
実施例5の微細乳化粒子	-	-	-	-	10.0	-	-	-	-
実施例6の微細乳化粒子	-	-	-	-	-	10.0	-	-	-
比較例1の微細乳化粒子	-	-	-	-	-	-	10.0	-	-
比較例2の微細乳化粒子	-	-	-	-	-	-	-	10.0	-
比較例3の微細乳化粒子	-	-	-	-	-	-	-	-	10.0
ヘキサセチルアルコール	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
セトステアリル・アルコール	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
易抽出モノステアリン酸ステアレート	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8
スクアラン	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
ポリソルベート60	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
セスキオレイン酸ソルビタン	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
グリセリン	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
トリエタノールアミン	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
カルボキシニルポリマー	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
防腐剤	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.
色素	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.
香料	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.
蒸留水	to 100	to 100	to 100	to 100	to 100	to 100	to 100	to 100	to 100

【0064】

【表5】

<処方例：柔軟化剤水>

組成	剤型例						比較剤型例		
	13	14	15	16	17	18	7	8	9
実施例1の微細乳化粒子	10.0	—	—	—	—	—	—	—	—
実施例2の微細乳化粒子	—	10.0	—	—	—	—	—	—	—
実施例3の微細乳化粒子	—	—	10.0	—	—	—	—	—	—
実施例4の微細乳化粒子	—	—	—	10.0	—	—	—	—	—
実施例5の微細乳化粒子	—	—	—	—	10.0	—	—	—	—
実施例6の微細乳化粒子	—	—	—	—	—	10.0	—	—	—
比較例1の微細乳化粒子	—	—	—	—	—	—	10.0	—	—
比較例2の微細乳化粒子	—	—	—	—	—	—	—	10.0	—
比較例3の微細乳化粒子	—	—	—	—	—	—	—	—	10.0
ベタイン	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0
ナトガム	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0
セルロースガム	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08
エタノール	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
耐熱トコフェロール	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
防腐剤	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.
色素	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.
蒸留水	to 100	to 100	to 100	to 100	to 100	to 100	to 100	to 100	to 100

【0065】

20 【表6】

<処方例：グル>

組成	剤型例						比較剤型例		
	19	20	21	22	23	24	10	11	12
実施例1の微細乳化粒子	10.0	—	—	—	—	—	—	—	—
実施例2の微細乳化粒子	—	10.0	—	—	—	—	—	—	—
実施例3の微細乳化粒子	—	—	10.0	—	—	—	—	—	—
実施例4の微細乳化粒子	—	—	—	10.0	—	—	—	—	—
実施例5の微細乳化粒子	—	—	—	—	10.0	—	—	—	—
実施例6の微細乳化粒子	—	—	—	—	—	10.0	—	—	—
比較例1の微細乳化粒子	—	—	—	—	—	—	10.0	—	—
比較例2の微細乳化粒子	—	—	—	—	—	—	—	10.0	—
比較例3の微細乳化粒子	—	—	—	—	—	—	—	—	10.0
EDTA・2Na	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02
エトキシグリコール	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
ポリアクリレート	20.00	20.00	20.00	20.00	20.00	20.00	20.00	20.00	20.00
エタノール	30.00	30.00	30.00	30.00	30.00	30.00	30.00	30.00	30.00
水添加ヒマシ油	0.80	0.80	0.80	0.80	0.80	0.80	0.80	0.80	0.80
フェニルトリメチルシリコン	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20
トリエタノールアミン	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40
香料	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.
蒸留水	to 100	to 100	to 100	to 100	to 100	to 100	to 100	to 100	to 100

【0066】

【表7】

<処方例：軟膏>

組成	剤型例						比較剤型例		
	25	26	27	28	29	30	13	14	15
実施例1の薬用乳化粒子	10.0	-	-	-	-	-	-	-	-
実施例2の薬用乳化粒子	-	10.0	-	-	-	-	-	-	-
実施例3の薬用乳化粒子	-	-	10.0	-	-	-	-	-	-
実施例4の薬用乳化粒子	-	-	-	10.0	-	-	-	-	-
実施例5の薬用乳化粒子	-	-	-	-	10.0	-	-	-	-
実施例6の薬用乳化粒子	-	-	-	-	-	10.0	-	-	-
比較例1の薬用乳化粒子	-	-	-	-	-	-	10.0	-	-
比較例3の薬用乳化粒子	-	-	-	-	-	-	-	10.0	-
比較例3の薬用乳化粒子	-	-	-	-	-	-	-	-	10.0
トリカブリン酸グリセリル/ トリカブリン酸セシル	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0
硬脂酸パルフィン	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0
セスキオレイン酸ソルビタン	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
オクタドセシル(Octyl dodecyl)-2S	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0
ヘキサン酸セチルエチル	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0
ステアラン	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
サリチル酸	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
グリセリン	15.0	15.0	15.0	15.0	15.0	15.0	15.0	15.0	15.0
ソルビトール	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0
蒸留水	to 100	to 100	to 100	to 100	to 100	to 100	to 100	to 100	to 100

【0067】〔試験例1〕皮膚透過性の効果

皮膚透過性は、ギニービッグ皮膚を対象とし、フランク透過セルを用いて測定した。試験直前、ギニービッグの腹部の皮膚を採取し、平方1 cm²の面積に切断した後、これを透過セルの直径が0.9 cmである透過セルに実装し、クランプで固定した。皮膚の一方の面(donor容器)は、実施例1～9及び比較例1～6を、0.5 ml取って0.5 mlになるように蒸留水で希釈し、剤型例1～30及び比較剤型例1～15の場合には、0.5 mlを入れた。他方の面(receptor容器)には、蒸留水とエタノールが4:1の重量比で混合された溶媒とを満たし、試験時の温度は実際皮膚温度の32℃を維持させた。試験開始後、一定時間の間隔で溶媒の一部を採取した後、HPLCを用いて皮膚に吸収された化合物K、ジンセンノサイドF1及び化合物Yの量を測定し、塗布濃度当たり皮膚吸収量(μg/cm²/重量%)で表わし、その結果を下記表9及び表10に示した。

【0068】人參精製サポニンに対しては、経皮吸収されたサポニンの含量を定量した。そして、バイオG F1 Kに対しては、経皮吸収された化合物K、ジンセンノサイドF1及び化合物Yの含量を定量し、それぞれのピークの合計を求めて総経皮吸収量

20 を計算した。

【0069】<HPLC分析条件>

-Column: C18(ODS)

-Solvent Flow: 1 ml/min

-Detection UV: 203 nm

-Sample test concentration: 5 mg/ml

-Sample injection amount: 10 μg

-Eluent: Gradient condition

-A: Acetonitrile/D. l. water=15/85

-B: Acetonitrile/D. l. water=80/20

30 【0070】

【表8】

<溶媒勾配条件>

時間(分)	A(%)	B(%)
0	100	-
10	70	30
25	50	50
40	-	100
70	-	100

【0071】

40 【表9】

経過時間による経皮吸収量(実施例1～12及び比較例1～9)

実施例	経過時間(hr)				比較例	経過時間(hr)			
	0	4	8	12		0	4	8	12
1	0	15.15	29.98	50.13	1	0	3.52	7.11	15.41
2	0	15.15	29.98	50.13	2	0	3.66	7.35	15.06
3	0	15.45	39.74	58.43	3	0	3.35	7.04	14.96
4	0	15.15	28.98	33.13	4	0	1.42	1.75	2.45
5	0	16.02	32.14	62.21	5	0	1.32	1.58	2.38
6	0	14.69	31.25	49.32	6	0	1.51	1.75	2.55
7	0	16.02	32.14	52.21	7	0	0.15	0.45	0.95
8	0	13.02	38.64	55.27	8	0	0.20	0.50	1.02
9	0	16.02	26.14	34.21	9	0	0.15	0.43	0.93
10	0	14.59	31.25	49.32					
11	0	12.59	33.55	45.32					
12	0	14.59	20.25	25.32					

【0072】

【表10】

経過時間による経皮吸収量(剤型例1～30及び比較剤型例1～15)

剤型例	経過時間(hr)				比較剤型例	経過時間(hr)			
	0	4	8	12		0	4	8	12
1	0	12.12	31.00	50.21	1	0	3.51	6.98	14.68
5	0	1.21	1.69	2.44	2	0	0.12	0.42	0.85
5	0	2.21	3.85	6.40	3	0	0.48	1.01	2.03
7	0	15.98	31.85	51.97	4	0	3.62	7.21	14.93
11	0	1.26	1.61	2.21	5	0	0.14	0.43	0.90
12	0	2.24	3.75	6.11	6	0	0.45	0.97	1.97
13	0	14.30	28.59	49.99	7	0	3.23	6.84	13.83
17	0	1.25	1.75	2.35	8	0	0.16	0.47	0.91
18	0	2.23	3.65	6.06	9	0	0.50	1.03	2.11
19	0	15.21	31.25	51.21	10	0	3.33	7.13	15.02
23	0	1.22	1.85	2.54	11	0	0.16	0.43	0.92
24	0	2.12	3.36	5.35	12	0	0.49	1.11	2.23
25	0	12.13	30.99	51.85	13	0	3.45	7.10	15.02
29	0	1.23	1.87	2.13	14	0	0.12	0.44	0.93
30	0	2.23	3.45	5.61	15	0	0.48	0.95	2.05
2	0	12.12	31.00	50.21					
3	0	12.12	34.00	54.21					
4	0	12.12	24.00	35.21					
8	0	15.98	31.85	51.97					
9	0	15.98	37.88	57.93					
10	0	15.98	31.85	51.97					
14	0	14.30	28.59	49.99					
15	0	14.30	38.59	59.97					
16	0	14.30	28.59	33.99					
20	0	15.21	31.25	51.21					
21	0	14.21	32.25	52.23					
22	0	15.21	31.25	51.21					
26	0	12.13	30.99	51.85					
27	0	12.13	35.99	57.83					
28	0	12.13	30.99	51.85					

【0073】上記の試験結果から、実施例1～12、すなわちナノ乳化技術を適用して製造した微細乳化粒子が、それぞれを単純に溶媒に溶解させた比較例1～9に

比べて、優れた皮膚透過性を有していることが確認できた。参考として、比較例においても、ナノ乳化技術が適用された比較例1～3が、単純溶液から製造された比較

例4～9に比べて、優れた透過効果を有している。

【0074】それぞれの対応する実施例及び比較例を比較してみる時、人参サポニン代謝産物、すなわち化合物K、ジンセノサイドF1及び化合物Yが、人参精製サポニンより優れた皮膚透過性を有することが分かる。これは、化合物K、ジンセノサイドF1及び化合物Yの特徴的な化学的構造から由来したものと考えられる。

【0075】要するに、人参サポニン代謝産物、すなわち化合物K、ジンセノサイドF1及び化合物Yが、人参精製サポニンに比べて、より高い皮膚透過性を有し、特に、皮膚親和性が優れたレシチンとナノ乳化技術を適用して乳化させることにより、皮膚透過性を増大することができる。

【0076】また、このような結果は、実施例及び比較例を剤型化した剤型例1～30及び比較剤型例1～15によっても確認することができた。つまり、皮膚親和性が優れたレシチンとナノ乳化技術により強化された代謝産物の皮膚透過性を剤型内でも確認することができた。

【0077】表10に示したように、一般に、化粧の持続時間が4～8時間であることを勘案すれば、化合物K、ジンセノサイドF1及び化合物Yを含有した実施例及び剤型例が、人参精製サポニンを含有した比較例及び比較剤型例に比べて、約9～10倍強化された皮膚透過性を示す。

*

試料濃度 (%)	繊維芽細胞増殖能 (%)													
	実施例				比較例1				剤型例				比較剤型例1	
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2
1x10 ⁻⁶	5	5	5	5	3	5	6	5	5	3				
1x10 ⁻⁷	13	12	10	16	5	13	9	8	12	5				
1x10 ⁻⁸	25	23	25	28	8	24	21	22	23	8				
1x10 ⁻⁹	47	45	43	45	13	45	41	39	44	12				
1x10 ⁻¹⁰	54	71	75	54	19	51	69	65	52	18				
1x10 ⁻¹¹	67	93	95	66	27	65	88	85	64	25				
1x10 ⁻¹²	81	120	121	81	41	79	112	102	78	40				
1x10 ⁻¹³	98	151	153	98	48	96	135	123	95	46				

【0080】表11に示したように、人参サポニン代謝産物を含有する実施例1～4の微細乳化粒子が、人参精製サポニンを含有する比較例1の微細乳化粒子に比べて、繊維芽細胞を増殖するのに効果的であった。また、このような結果は、実施例1～4及び比較例1を剤型化した剤型例1～4及び比較剤型例1でも確認することができた。つまり、剤型例1～4が比較剤型例1より繊維芽細胞を増殖するのに効果的であった。

40

*【0078】【試験例2】繊維芽細胞(fibroblast)の増殖効能測定

3.5%のウシ胎児血清が含有されたDMEM(Doubecco's Modified Eagle's Media;以下「DMEM」と記す)培地で培養したヒト繊維芽細胞を、96ウェル平板培養器(96-well microtiter plate)に5,000細胞/wellになるように分注した。実施例1～4及び比較例1の微細乳化粒子の場合には、各代謝産物、バイオG F1K及び人参精製サポニンの濃度が、それぞれ1%になるように試料を用意した。そして、剤型例1～4及び比較剤型例1のクリームは、それぞれ10%の溶液に試料を用意した。試料を培養培地により1/10ずつ順次的に希釈して添加した後、37℃で4日間培養した。培養後、0.2mM T T (3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide)溶液を各ウェル当たり50μlずつ添加し、さらに37℃で4時間培養した。生成されたホルマザン(formazane)をジメチルスルホキシド(DMSO)に溶解させた。溶解させたホルマザンの吸光度を平板培養測定機(microplate reader)を用いて570nmで測定した。繊維芽細胞増殖能は、試料を処理しない対照群の吸光度と比較して評価した。その結果を表11に示した。

【0079】

【表11】

【0081】【試験例3】角質形成細胞(keratinocyte)の増殖効能測定

角質形成細胞の増殖効能も試験例2と同様の方法で測定した。試料としては、実施例5、比較例2、剤型例5及び比較剤型例2を試験例2で説明したように用意した。その結果を表12に示した。

【0082】

【表12】

試料濃度 (%)	角質形成細胞増殖能 (%)			
	実施例6	比較例2	剤型例2	比較剤型例2
1x10 ⁻⁴	5	4	5	4
1x10 ⁻⁷	13	6	13	6
1x10 ⁻⁸	18	7	18	7
1x10 ⁻⁹	26	11	26	11
1x10 ⁻⁶	34	14	34	14
1x10 ⁻⁵	39	19	38	18
1x10 ⁻⁴	45	23	44	21
1x10 ⁻³	53	27	51	26

【0083】表12に示したように、バイオGF1Kを含有する実施例5の微細乳粒子を処理したのが、人参精製サボンを含有する比較例2の微細乳粒子に比べて、角質形成細胞を増殖するのに約2倍程度効果的であった。また、このような結果は、実施例5及び比較例2を剤型化した剤型例5及び比較剤型2でも確認することができた。

【0084】〔試験例4〕試験管内(in vitro)コラーゲン生成成効能測定
ヒト繊維芽細胞を24ウェル平板培養器に培養した後、試験例2と同様の方法により、実施例6及び比較例2の微細乳粒子の場合には、試料を培養培地で1/100ずつ順次的に希釈して添加し、剤型例6及び比較剤型例3のクリームは、培養培地で1/100ずつ順次的に希釈して添加した。培養3日目、10%のウシ胎児血清が含有されたDMEM培地を各ウェル当たり0.5mlずつ添加した後、L[2,3,4,5-3H]-プロリン10μCiを添加した。24時間経過後、各ウェルに入っている*

10μmの培地と細胞をかき集め、5%のトリクロロ酢酸(TCA)溶液に入れて水洗いした後、2つの試験管に分注した。1つの試験管には、タイプIコラーゲナーゼ(type I collagenase) 1unit/μlを入れ、37℃で90分間培養し、他の試験管は4℃で保管した。その後、全ての試験管に50%TCAを0.05mlずつ添加して4℃で20分間放置した。得られた溶液をそれぞれ12,000rpmで10分間遠心分離した。それぞれの上澄みと沈殿物を液体シンチレーション計数器(LSC:liquid Scintillation Counter)によりdpm(decay per minute)値を得た。下記数式1により、対照群と試験群に対して、コラーゲン生成値(RCB:Relative Collagen Biosynthesis)を求め、その結果を下記表13に示した。

【0085】【数式1】RCB=[コラーゲンdpm/[全体コラーゲン-コラーゲンdpm]×5.4+コラーゲンdpm]×100

【0086】

【表13】

試料濃度 (%)	コラーゲン生成成効能 (%)			
	実施例6	比較例3	剤型例6	比較剤型例3
1x10 ⁻⁴	5	2	2	3
1x10 ⁻⁷	13	2	2	3
1x10 ⁻⁸	26	4	4	6
1x10 ⁻⁶	33	6	6	9
1x10 ⁻⁵	51	10	10	13
1x10 ⁻³	59	12	12	16
1x10 ⁻⁴	68	16	16	20
1x10 ⁻³	74	20	18	26

【0087】表13に示したように、バイオGF1Kを含有する実施例6の微細乳粒子を処理したのが、人参精製サボンを含有する比較例3の微細乳粒子に比べて、コラーゲン生成を促進するのに約3倍程度効果的であった。また、このような結果は、実施例6及び比較例3を剤型化した剤型例6及び比較剤型例3でも確認することができた。

【0088】〔試験例5〕生体内(in vivo)でのコラーゲン生成成効能測定
各々の脱毛マウス(4週、female)の背中に、剤型例7及び比較剤型例4をエタノール:プロピレングリコール=7:3の溶液を賦形剤として塗布し、3日間貼布した。24時間の休止期を置いて3日間貼布を繰り返して、その後、脱毛マウスの皮膚を生体検査(biopsy)し、タイプI pN プロコラーゲン(type I pN procollagen)及びMMP-1(Matrix Metalloproteinase-1)に対する免疫染色と、ヘマトキシリンエオシン染色(haematoxylin-eosin staining)とにより組織染色を行った。組織染色によりプロコラーゲン、MMP-1の発現量及び表皮厚さの変化を観察し、その結果を図1及び図2に示した。

【0089】図1及び図2に示したように、剤型例7と比較剤型例4を比較してみれば、本発明の微細乳粒子の剤型が化合物K、ジンセンノサイドF1及び化合物Yの皮膚透過においてより効果的で、従って、コラーゲン生成を促進できるということが分かる。比較剤型例4の

場合は、人参精製サボニンが皮膚に効果的に吸収されず、コラーゲン生成効果が微小なことを確認することができた。これは、人参精製サボニンが構造的に皮膚に吸収され難いためであり、これは皮膚親和性レシチンやナノ乳化技術によっても容易に克服されないことが分かる。

【0090】要するに、上記の結果から、人参サボニン代謝産物、すなわち化合物K、ジンセンノサイドF1及び化合物Yが構造的に皮膚に吸収され易く、皮膚親和性レシチン及びナノ乳化技術によって皮膚透過性が極大化されることが確認できる。つまり、本発明の微細乳粒子は、コラーゲン生成を促進することができる。

【0091】〔試験例6〕生体内(in vivo)でのコラーゲン生成効果測定

試験例5と同様の方法により、試料として剤型例の変わりに、実施例2〜4及び比較例1の微細乳粒子を用いて、これらのコラーゲン生成効果を測定した。その結果を図3(化合物Kを含有する実施例2)、図4(ジンセンノサイドF1を含有する実施例3)、図5(化合物Yを含有する実施例4)、及び図6(人参精製サボニン含有する比較例1)に示した。

【0092】試験例5で説明したように、試験例1及び6の結果から、人参サボニン代謝産物、すなわち化合物K、ジンセンノサイドF1及び化合物Yを含有する本発明の微細乳粒子が、より効果的に皮膚を透過することができ、従って、コラーゲン生成を促進できることを確認した。これに対して、人参精製サボニン含有する微細乳粒子は、皮膚に効果的に吸収されず、コラーゲン生成効果が微小であることが確認できた。これは、*

*人参精製サボニンが構造的に皮膚に吸収され難いためであり、これは、皮膚親和性レシチンやナノ乳化技術によっても容易に克服されないことが分かる。

【0093】〔試験例7〕人体皮膚を対象にした皮膚シワ改善効果

本発明の微細乳粒子を含有する組成物に対して皮膚シワ改善効果を評価するために、35〜45才の顔面シワのある試験対象者を試験群当たり30人ずつ4つの試験群に分けて、剤型例1及び比較剤型例1のクリーム剤型(1群)と；剤型例2及び比較剤型例1のクリーム剤型(2群)と；剤型例3及び比較剤型例1のクリーム剤型(3群)と；剤型例4及び比較剤型例1のクリーム剤型(4群)と；を3ヶ月使用させた。被検者の顔面左部には剤型例のクリームを、右部には比較剤型例1のクリームを使用した。クリーム使用の前に顔面両側の皮膚状態を測定しておき、3ヶ月後同一部位を再測定する方法において、皮膚シワの変化を測定した。皮膚測定は、温度24℃、相対湿度40%の恒温実習室で行い、目尻部位のシワをレプリカ(replica)で複製して、ビジョメータシステム(Visionmeter system; C+K社)で皮膚シワを測定した。皮膚シワの変化量は、下記数式2によって計算した。その結果を表14に示した。

【0094】〔数式2〕皮膚シワの変化量(Δ%) = $\left[\frac{(T d_i - T d_o)}{T d_o} \right] \times 100$

(式中、T d i は3ヶ月クリームを使用した後、測定した皮膚シワ値であり、T d o はクリームを使用した前、測定した皮膚シワ値である。)

【0095】

〔表14〕

		シワ減少率(Δ%)
1群	剤型例1 (レパイオGF1Kの微細乳粒子を含有)	63±15%
	比較剤型例1 (人参精製サボニンの微細乳粒子を含有)	25±10%
2群	剤型例2 (化合物Kの微細乳粒子を含有)	66±15%
	比較剤型例1	22±10%
3群	剤型例3 (ジンセンノサイドF1の微細乳粒子を含有)	72±15%
	比較剤型例1	23±10%
4群	剤型例4 (化合物Yの微細乳粒子を含有)	56±15%
	比較剤型例1	21±10%

【発明の効果】上記したように、本発明の微細乳粒子は、人参サボニンから糖の一部を除去することにより、皮膚透過性において構造的長所を有する化合物K、ジンセンノサイドF1及び化合物Yを含有している。また、本発明の微細乳粒子は、皮膚親和性乳化剤及びナノ乳化技術を適用することにより、皮膚透過性を極大化し、これにより、繊維芽細胞増殖及びコラーゲン生成を促進することができ、皮膚シワの改善及び皮膚老化を防止するのに有利に使用されることができ。

【図面の簡単な説明】

【図1】 剤型例7のコラーゲン生成効果を示す皮膚細胞組織図である。

【図2】 比較剤型例4のコラーゲン生成効果を示す皮膚細胞組織図である。

【図3】 実施例2のコラーゲン生成効果を示す皮膚細胞組織図である。

【図4】 実施例3のコラーゲン生成効果を示す皮膚細胞組織図である。

【図5】 実施例4のコラーゲン生成効能を示す皮膚細胞組織図である。

【図1】



【図2】



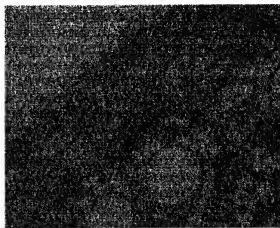
【図3】



【図4】



【図5】



【図6】



【図6】 比較例1のコラーゲン生成効能を示す皮膚細胞組織図である。

フロントページの続き

(51) Int. Cl. ⁷	識別記号	F I	テームコード (参考)
A 61 K	7/00	A 61 K	7/00
	7/02		7/02
	7/021		7/021
	7/075		7/075
	7/08		7/08
	7/13		7/13
	7/26		7/26
	7/48		7/48
	7/50		7/50
	9/107		9/107
	9/127		9/127
	47/24		47/24
A 61 P	17/16	A 61 P	17/16
(31) 優先権主張番号	2002-29179	F ターム (参考)	4C076 AA17 AA19 BB31 CC18 DD02F
(32) 優先日	平成14年5月27日 (2002. 5. 27)		DD07F DD12F DD16F DD63F
(33) 優先権主張国	韓国 (K R)		FF43 GG41
(72) 発明者	康 明 勳	4C083	AA122 AC022 AC072 AC102
	大韓民国 京畿道 龍仁市 水枝邑 竹田		AC112 AC122 AC352 AC392
	里 832番地 碧山アパート 109棟403号		AC432 AC442 AC472 AC532
(72) 発明者	成 大 石		AC712 AC902 AD092 AD152
	大韓民国 ソウル特別市 東大門区 清涼		AD352 AD391 AD392 AD492
	里1洞 美住アパート 4棟817号		AD571 AD572 AD662 BB04
(72) 発明者	朱 喜 鎭		BB05 BB06 BB07 CC04 CC05
	大韓民国 ソウル特別市 道峰区 双門4		CC07 CC11 CC12 CC14 CC23
	洞 漢陽アパート 604棟210号		CC36 CC38 CC39 CC41 DD08
(72) 発明者	韓 相 勳		DD23 DD27 DD31 DD41 EE11
	大韓民国 京畿道 水原市 長安區 栗田		FF01
	洞 天龍アパート 2棟203号	4C086	AA01 AA02 EA19 MA01 MA02
(72) 発明者	金 漢 坤		MA03 MA04 MA05 NA11 ZA89
	大韓民国 京畿道 水原市 八達區 牛満		ZB22
	洞29番地 住公アパート 203棟902号		

【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載

【部門区分】第3部門第2区分

【発行日】平成20年3月27日(2008.3.27)

【公開番号】特開2003-212776(P2003-212776A)

【公開日】平成15年7月30日(2003.7.30)

【出願番号】特願2002-374691(P2002-374691)

【国際特許分類】

A 6 1 K 31/704 (2006.01)
 A 6 1 K 8/60 (2006.01)
 A 6 1 K 8/06 (2006.01)
 A 6 1 K 8/02 (2006.01)
 A 6 1 K 8/00 (2006.01)
 A 6 1 Q 1/14 (2006.01)
 A 6 1 Q 1/02 (2006.01)
 A 6 1 Q 5/02 (2006.01)
 A 6 1 Q 5/12 (2006.01)
 A 6 1 Q 5/10 (2006.01)
 A 6 1 K 8/96 (2006.01)
 A 6 1 Q 11/00 (2006.01)
 A 6 1 Q 19/00 (2006.01)
 A 6 1 Q 19/10 (2006.01)
 A 6 1 K 9/107 (2006.01)
 A 6 1 K 9/127 (2006.01)
 A 6 1 K 47/24 (2006.01)
 A 6 1 P 17/16 (2006.01)

【F I】

A 6 1 K 31/704 Z N M
 A 6 1 K 7/00 F
 A 6 1 K 7/00 N
 A 6 1 K 7/00 R
 A 6 1 K 7/00 S
 A 6 1 K 7/00 U
 A 6 1 K 7/02 A
 A 6 1 K 7/021
 A 6 1 K 7/075
 A 6 1 K 7/08
 A 6 1 K 7/13
 A 6 1 K 7/26
 A 6 1 K 7/48
 A 6 1 K 7/50
 A 6 1 K 9/107
 A 6 1 K 9/127
 A 6 1 K 47/24
 A 6 1 P 17/16

【手続補正書】

【提出日】平成20年2月7日(2008.2.7)

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】特許請求の範囲

【補正方法】変更

【補正の内容】

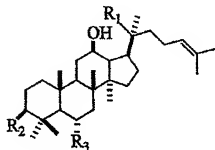
【特許請求の範囲】

【請求項1】

人參サポニンから糖転換反応により得られた人參サポニン代謝産物であって、前記人參サポニン代謝産物が、下記化学式1で表される20-0- β -D-グルコピラノシル-20(S)-プロトパナクサジオール(protopanaxadiol)、化学式2で表される20-0- β -D-グルコピラノシル-20(S)-プロトパナクサトリオール(protopanaxatriol)、及び化学式3で表される20-0-[α -L-アラビノピラノシル(1 \rightarrow 6)- β -D-グルコピラノシル]-20(S)-プロトパナクサジオール、並びにこれらの混合物から選択されるものを含むことを特徴とする人參サポニン代謝産物。

【化1】

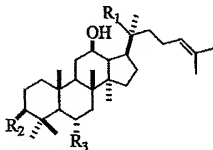
【化学式1】



(式中、 R_1 はO-Glcであり、 R_2 はOHであり、 R_3 はHである。)

【化2】

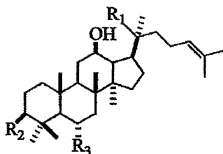
【化学式2】



(式中、 R_1 はO-Glcであり、 R_2 はOHであり、 R_3 はOHである。)

【化3】

【化学式3】



(式中、 R_1 は $O-Glc^{-1}Arap$ であり、 R_2 は OH であり、 R_3 は H である。)

【請求項2】

前記混合物は、20-0- β -D-グルコピラノシル-20(S)-プロトバナクサジオール30～50重量%、20-0- β -D-グルコピラノシル-20(S)-プロトバナクサトリオール5～25重量%、及び20-0-[α -L-アラビノピラノシル(1→6)- β -D-グルコピラノシル]-20(S)-プロトバナクサジオール5～25重量%を含むことを特徴とする請求項1に記載の人参サポニン代謝産物。

【請求項3】

請求項1または2に記載の人参サポニン代謝産物を含有する微細乳化粒子。

【請求項4】

人参サポニン代謝産物を微細乳化粒子の総重量に対して、 10^{-8} ～50重量%の量で含有することを特徴とする請求項3に記載の微細乳化粒子。

【請求項5】

人参サポニン代謝産物を微細乳化粒子の総重量に対して、0.001～30重量%の量で含有することを特徴とする請求項4に記載の微細乳化粒子。

【請求項6】

平均粒径が30～500nmであることを特徴とする請求項3に記載の微細乳化粒子。

【請求項7】

レシチンまたはその誘導体で乳化させたことを特徴とする請求項3に記載の微細乳化粒子。

【請求項8】

前記レシチンは、不飽和コリン系化合物、セリン系化合物、セファリン系化合物、及びこれらの水素添加物からなる群のうち選択された1種以上を含有するリポソームであり、微細乳化粒子の総重量に対して0.5～10重量%の量で使用されることを特徴とする請求項7に記載の微細乳化粒子。

【請求項9】

前記不飽和コリン系化合物は、ホスファチジルコリンまたはリゾホスファチジルコリンであり、前記セファリン系化合物は、ホスファチジルエタノールアミンであることを特徴とする請求項8に記載の微細乳化粒子。

【請求項10】

陰イオン系、陽イオン系、非イオン系または両性イオン系乳化剤からなる群のうち選択された補助乳化剤が、レシチンと一緒に使用され、レシチンの重量に対して0.1～5倍の比率に使用されることを特徴とする請求項7ないし9のいずれかに記載の微細乳化粒子。

【請求項11】

500～2,500barでの高压乳化のナノ乳化技術で乳化させたことを特徴とする請求項3または7に記載の微細乳化粒子。

【請求項12】

請求項3に記載の微細乳化粒子の製造方法であって、レシチンまたはその誘導体により人參サボニンの代謝産物を乳化させる段階を含むことを特徴とする微細乳化粒子の製造方法。

【請求項13】

ナノ乳化技術により人參サボニンの代謝産物を乳化させる段階を含むことを特徴とする請求項12に記載の微細乳化粒子の製造方法。

【請求項14】

前記ナノ乳化技術は、500～2,500 barでの高压乳化法であることを特徴とする請求項13に記載の微細乳化粒子の製造方法。

【請求項15】

請求項1または2に記載の人參サボニン代謝産物を含む外用組成物。

【請求項16】

請求項3ないし11のいずれかに記載の微細乳化粒子を含む外用組成物。

【請求項17】

請求項3ないし11のいずれかに記載の微細乳化粒子を組成物の総重量に対して、10⁻⁸～50重量%含有することを特徴とする外用組成物。

【請求項18】

柔軟化粧水、収斂化粧水、栄養化粧水、栄養クリーム、マッサージクリーム、エッセンス、アイクリーム、アイエッセンス、クレンジングクリーム、クレンジングフォーム、クレンジングウォーター、パック、パウダー、ボディーローション、ボディークリーム、ボディーオイル、ボディーエッセンス、メーキャップベース、ファンデーション、染毛剤、シャンプー、リンス、ボディー洗浄剤、歯磨き粉、口腔洗浄液、ローション、軟膏、ゲル、クリーム、パッチ、及び噴霧剤からなる群のうち選択された剤型であることを特徴とする請求項15ないし17のいずれかに記載の外用組成物。

【請求項19】

皮膚老化防止用である、15ないし18のいずれかに記載の外用組成物。

【請求項20】

請求項1または2に記載の人參サボニン代謝産物を有効成分とする繊維芽細胞および/または角質形成細胞増殖促進剤。

【請求項21】

請求項1または2に記載の人參サボニン代謝産物を有効成分とするコラーゲン生合成促進剤。

【請求項22】

請求項1または2に記載の人參サボニン代謝産物を有効成分とするシワ改善剤。

【請求項23】

請求項1または2に記載の人參サボニン代謝産物を有効成分とする皮膚老化防止剤。

【請求項24】

請求項3ないし11のいずれかに記載の微細乳化粒子を有効成分とする繊維芽細胞および/または角質形成細胞増殖促進剤。

【請求項25】

請求項3ないし11のいずれかに記載の微細乳化粒子を有効成分とするコラーゲン生合成促進剤。

【請求項26】

請求項3ないし11のいずれかに記載の微細乳化粒子を有効成分とするシワ改善剤。

【請求項27】

請求項3ないし11のいずれかに記載の微細乳化粒子を有効成分とする皮膚老化防止剤